

DIE ESTERGLYKOSIDE DER SAMEN VON
DREGA ABYSSINICA (HOCHST.) K. SCHUM.

Drevogenin A und Drevogenin B, zusätzlicher Strukturbeweis

Teildruck der

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

AJAY SAHAI BHATNAGAR

aus Bombay (Indien)

1967

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. T. REICHSTEIN
aud Dr. H. ERLLENMEYER[†]

Basel, den 2. Mai 1967

Prof. Dr. H. HUBER
Dekan

Herrn AJAY SAHAI BHATNAGAR wurde von der Philosophisch-
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 2. Mai 1967
erlaubt, diesen Teildruck seiner am. 2. Mai 1967 genehmigten
Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit
mit dem Titel:

DIE ESTERGLYKOSIDE DER SAMEN VON
DREGEA ABYSSINICA (HOCHST) K. SCHUM.
Isolierungen und Charakterisierungen
Drevogenin A und Drevogenin B, zusätzlicher Strukturbeweis



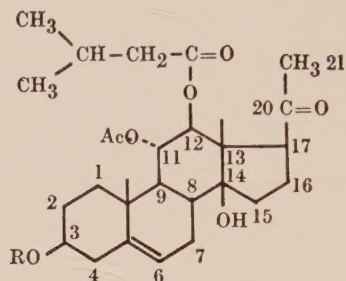
kann eingesehen werden:

1. im Organisch-Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

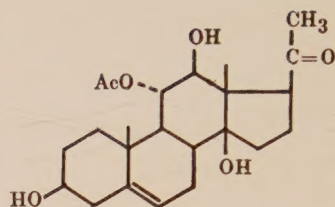
Drevogenin A und Drevogenin B, zusätzlicher Strukturbeweis

Drevogenin A ist eine der zuckerfreien Hauptkomponenten in den Glykosiden der Samen von Dregea volubilis (L.) Benth. ex Hook [2] und Dregea abyssinica (Hochst.) K. Schum. In beiden Pflanzen kommen auch Glykoside vor, die kleine Menge Drevogenin B enthalten [2, 3]. Für die Drevogenine A und B wurden kürzlich die Formeln 1 und 3 abgeleitet. Beide Stoffe stellen Ester des Drevogenins-P (4) dar, das in Form von Glykosiden ebenfalls in den Pflanzen vorkommt [4a, 3,]. Die Struktur von Drevogenin-P (4) wurde eindeutig bewiesen [4b]. Um die Stellung der zwei Acylgruppen in Drevogenin A (1) zu beweisen wurde 3,12-Di-isovaleryl-drevogenin-P, dessen Struktur sichergestellt war, energisch acetyliert, wobei sich das krist. Derivat des Drevogenins A isolieren liess. Die Ausbeute war aber gering und die Reaktion verlief nicht völlig einheitlich, sodaß eine Acylwanderung nicht völlig ausgeschlossen werden konnte.

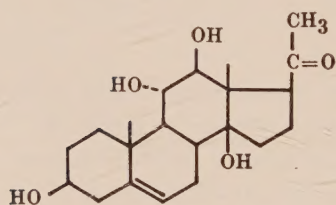
Die Struktur von Drevogenin-B entsprechend Formel 3 ergab sich aus dem Umstand, daß es bei der Acetylierung ein Acetyl-derivat 5 lieferte, das isomer und verschieden vom 3,12-Di-O-acetyl-drevogenin-P



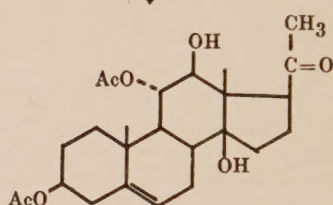
- 1 (R=H) Drevogenin A
F. 193–195° [+ 46,2 Me]
[2] [3] [4a, b, c]
2 (R=Ac) F. 144–146,5°
[+ 51,5 Me] [4b]



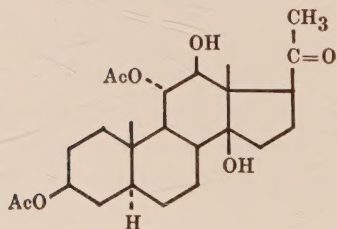
- 3 Drevogenin B
F. 224–242° [+ 58,2 Me]
[2] [3] [4a, c]



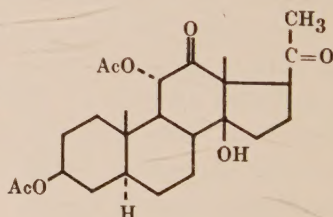
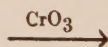
- 4 Drevogenin P
F. 122–130°/ 210–214°
od. 185–190° [–34,4 Me] [4a, b]



- 5 3-O-Acetyl-drevogenin B
F. 158–164°
[+ 26,4 Chf] [4b]



- 6 Nicht rein isoliert
Präparat enthielt noch
etwas 5β-Derivat



- 7 F. 157–175°
Präparat enthielt noch
etwas 5β-Derivat

Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln (Me=Methanol, Chf=Chloroform) an. Ac=CH₃CO-.

war, das bei der Acetylierung von Drevogenin-D entsteht und dessen Struktur eindeutig gesichert war. Um diesen Befund auch noch auf direktem Weg zu beweisen, fehlte damals das Material.

Da wir inzwischen nochmals eine kleine Menge Drevogenin-B aus Dregea abyssinica isolieren konnten [3], haben wir die fehlenden Versuche noch nachgeholt, soweit dies mit der beschränkten Menge möglich war.

Zusätzlicher Beweis für die Stellung der Acetoxylgruppe in Drevogenin B.

Drevogenin B wurde durch milde Acetylierung in das bekannte 3-0-Acetylderivat 5 überführt. Das reine Produkt wurde mit Pt in Eisessig hydriert, wobei auf Versuche zur Reinigung des rohen Hydrierungsprodukts 6 verzichtet wurde. Es dürften neben kleinen Mengen 5 β -Derivat auch noch Produkte entstehen, bei denen die 20-Ketogruppe reduziert war. Dieses Rohprodukt wurde direkt mit CrO₃ dehydriert worauf sich das Diketon 7 in Kristallen isolieren ließ. Auf eine völlige Reinigung mußte wegen Materialmangel verzichtet werden, wir glauben aber auf Grund früherer Befunde³⁾ sowie dem NMR-Spektrum (Fig. 1), daß das Präparat zur Hauptsache den Stoff 7 enthielt, dem nur kleine Mengen des analogen 5 β -Derivats beigemischt waren. Das erwähnte NMR-Spektrum (Fig. 1) zeigt bei 5,46 ppm ein Dublett ($J=11,5$ cps) entspr. 1 H das wir dem 11 β -Proton zuordnen. Ein ganz analoges Dublett bei 5,45 ppm ($J=10$ cps) fanden Sauer et al. (vgl. Fig. 13 bei [4b]) für einen ähnlich gebauten Stoff gesicherter Struktur (aber mit 14 α -H). Die Signale der zwei angulären Methylgruppen passen allerdings nur mässig auf die nach Zürcher [5] berechneten Werte (vgl. Tab. 1.)

3) Sauer et al. [4a] erhielten bei der Hydrierung von 3-0-Acetyldrevogenin A neben viel 5 α - nur wenig 5 β -Derivat.

Tabelle 1. Berechnung der chem. Verschiebung (in δ -Werten für Tetramethylsilan=0) der Methylgruppen von 3 β , 11 α -Diacetoxy-14 β -hydroxy-5 α -pregnan-12,20-dion (7) und seinem 5 β -Isomeren nach Zürcher [5] (vgl. auch Bhacca & Williams [6]).

		für 5 α -Derivat		für 5 β -Derivat		
		19-H	18-H	19-H	18-H	
Grundgerüst	5 α 14 β	0,767	0,992	5 β 14 β	0,900	0,992
3 β -OAc		+0,050	+0,008		+0,058	+0,008
11 α -OAc		+0,092	+0,058		+0,092	+0,058
12-Oxo		+0,100	+0,375		+0,100	+0,375
4 β -OH + 17 β -COCH ₃	⁴⁾	+0,017	-0,025		+0,017	-0,025
ber. Wert		1,006	1,408		1,167	1,408
gef. (vgl. Fig. 1)		0,97	1,20			

Sie zeigen aber, daß sicherlich nur kleine Mengen eines 5 β -Derivates in dem Präparat enthalten sein können, da sonst das Signal der 19-Methylgruppe nicht als so starkes Singlett (bei ca. 0,97 ppm) auftreten könnte⁵⁾. Daher ist das Dublett bei 5,46 sicher nicht

4) Wie früher berichtet, werden die Beiträge dieser beiden Gruppen am besten als gemeinsames Inkrement angesehen. Die hier verwendeten Werte beruhen auf jenen von Kapur et al. [7] und Eppenberger et al. [8].

5) Für die 5 β -Verbindung wäre das Signal bei ca. 1,15ppm zu erwarten, im Spektrum ist dort kein Maximum sichtbar. Aber auch wenn das kleine Signal bei ca. 1,04 ppm der 5 β -Verbindung entsprechen würde, wäre der Gehalt auf höchstens 20% zu schätzen und könnte nie für das Auftreten der zwei fast gleich starken Signale bei 5,46ppm verantwortlich sein.

durch eine Verunreinigung vorgetäuscht. Wäre die Acetylgruppe des Drevogenin B in 12-Stellung gewesen, so hätte hier ein 11-Oxo-derivat resultieren müssen, das bei ca. 5,06 ein Singulett gezeigt hätte (vgl. Fig. 15 bei Sauer et al. [4b]). Ausserdem zeigte ein Doppelresonanzversuch, daß bei Einstrahlung bei 1,51 ppm (entspr. H in 9 α -Stellung) das Dublett zu einem Singulett bei 5,46 kollabierte. Durch diesen Befund dürfte die Struktur von Drevogenin B gut gesichert sein.

Überführung von Drevogenin B in Drevogenin A. Zur weiteren Sicherung der Struktur von Drevogenin A wurde 3-O-Acetyldrevogenin-B (5) mit Isovalerylchlorid in Pyridin verestert, worauf sich das krist. O-Acetyldrevogenin-A (2) in reiner Form isolieren liess. Es war nach Mischprobe, DC und IR.-Spektrum identisch mit authentischem Material.

Damit ist die Stellung der zwei Acetylreste im Drevogenin A ebenfalls bestätigt.

Schlußfolgerungen. Die Drevogenine sind sehr ähnlich gebaut wie die von Tschesche et al. [9] untersuchten Kondurangogenine. Diese enthalten an C-5 jedoch keine Doppelbindung und besitzen 5 α -Konfiguration, sonst ist das Grundgerüst genau gleich gebaut. Bei den Kondurangogeninen A und C [9c] sind die zwei HO-Gruppen an 11 α - und 12 β ebenfalls verestert und zwar mit Essigsäure und Zimtsäure, wobei sich aber die Essigsäure in 12- und die Zimtsäure in 11-Stellung befindet.

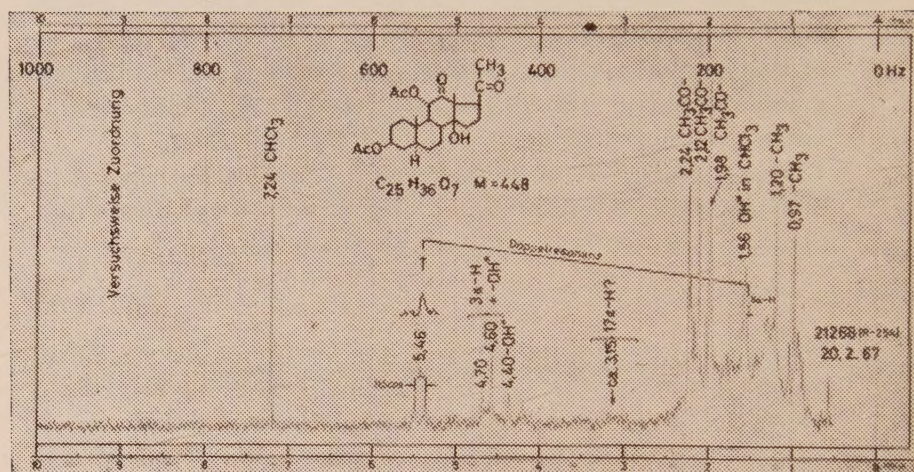


Fig. 1. Protonenresonanzspektrum von 3 β ,11 α -Diacetoxy-14 β -hydroxy-5 α -pregnan-12,20-dion (7), Smp. 157-175 $^{\circ}$, $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_7$ (448,5). Das Präparat enthält noch eine kleine Menge des entsprechenden 5 β -Derivats.

Experimenteller Teil.

Allgemeine Angaben. Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil des 1. Teiles dieser Dissertation.

Acetylierung von Drevogenin B. 44,5 mg Drevogenin-B wurden in 0,5 ml Py und 0,4 ml Ac₂O gelöst und 3 Std. bei 23° stehengelassen. Die Reaktion wurde durch DC verfolgt, wobei schon nach 1 Std. 2 neue Flecke entstanden waren. Nach Zugabe von Me wurden die Lösungsmittel am Vakuum entfernt und nach üblicher Aufarbeitung wurden 49,5 mg gelber Schaum erhalten, der an SiO₂ chromatographiert wurde.

Tabelle 2. Chromatographie von 40,2 mg O-Acetyl-Derivatgemisch von Drevogenin B an 20 g SiO₂ nach Duncan [10]

Fr-Nr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
		Menge in mg.	Habitus	
1-12	Eg-Cy-(4:1)	6	braunes Oel	nicht untersucht
13-16	„	11	weißer Schaum	Kristallisation
17	„	2	fast farbl. Sirup.	Gemisch, nicht getrennt
18-28	„	16	weißer Schaum	Kristallisation

Fr 18-28 gaben aus Ae-Pn 11 mg. farblose Kristalle des gewünschten 3-O-Acetyl-drevogenin B (5) (Präp. AB-21), Smp. 186-189°. Fr 13-16 gaben aus Ae-Pn 9 mg Drusen vom Smp. 114-119° (Präp. AB-22). Nach Laufstrecke im DC vermutlich ein Di-O-acetylderivat von Drevogenin P (C₂₅H₃₆O₇, M=448,56).

Cotton-Effekt⁶⁾: Positiv, $a = + 47$. $[\alpha]_D = + 42 \pm 7^\circ$
($c=0,0760$ in Me)⁷⁾. Dieses Produkt konnte nicht weiter
untersucht werden.

Spezifische Acetylierung von Drevogenin B. 7 mg. Drevogenin
B wurden in 0,7 ml einer Standard-Lösung (Py-Ac₂O = 50:1) gelöst und
7 Std. bei 23° stehengelassen. Nach DC war die Reaktion noch nicht
beendet. Weitere 0,35 ml der Standard-Lösung wurden zugegeben und
nach weiteren 4 Std. bei 23° war die Reaktion vollständig. Uebliche
Aufarbeitung gab 8,8 mg eines weissen Schaumes, der aus Ae-Pn 5 mg
farblose trigonale Prismen lieferte, Smp. 184–188°. Dieses Produkt
war mit authentischem 3-O-Acetyl-drevogenin-B identisch.

3-O-Acetyl-5 α -dihydrodrevogenin B (6). 7,854 mg 3-O-Acetyl-drevogenin
B wurden in 2 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 5 mg vor-
hydriertem PtO₂ in einer Mikroreduktionszelle hydriert (H₂-Aufnah-
men: 1,30 ml bei 22° und 730 Torr, entsprechend 1,5 Mol H₂).
Die Reaktionslösung wurde filtriert und direkt mit CrO₃ oxidiert
(siehe unten).

3 β , 11 α -Diacetoxy-14 β -hydroxy-5 α -pregnan-12,20-dion (7). (Präp.
AB-24). Zur oben erhaltenen Lösung wurden 0,3 ml einer 1-proz.
CrO₃ Lösung in Eisessig (10% Ueberschuss) zugegeben. Nach 10 Std.
bei 23° zeigte die Prüfung mit H₂O₂ und Ae noch die Anwesenheit

6) Wir danken Herrn Dr. F. Burkhardt, Physiklabor der
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, bestens für die Bestimmung
der Rotationsdispersion (Kurve Nr. 3418 vom 8.3.67 in Methanol).

7) Aus der Rotationsdispersionskurve bestimmt⁶⁾.

von Cr^{VI} , die nach weiteren 5 Stunden schwächer war. Nun wurden 0,05 ml der gleichen CrO_3 -Lösung zugegeben und nach weiteren 5 Std. wurde das überschüssige CrO_3 mit 1 ml Me zerstört. Nach 24-stündigem Stehenlassen wurde die Lösung teilweise eingengt, einige Tropfen W und 0,1 N H_2SO_4 zugegeben und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Uebliche Aufarbeitung gab 7,8 mg eines Schaumes, der nur teilweise kristallisierte, Smp. 129–157° Dieses Präparat wurde zur Aafnahme des NMR.-Spektrums verwendet, obwohl es noch wenig des 5 β -Isomeren enthielt.

3-O-Acetyl-drevogenin A aus 3-O-Acetyl-drevogenin B.

8,8 mg 3-O-Acetyl-drevogenin B wurden in 0,1 ml abs. Py-abs. Chf-(1:1) gelöst, auf 0° gekühlt und 0,035 ml eines Gemisches von frisch dest. Isovalerylchlorids-abs. Chf-(1:1) zugegeben. Nach 3 Std. bei 20° waren nach DC noch merkliche Mengen Ausgangsmaterial vorhanden. Nun wurde nochmals 0,035 ml obiger Isovalerylchlorid-Chf-Lösung zugegeben und nach weiteren 2 Std. waren ca. 80% umgesetzt. Eine Prüfung 2 Std. waren ca. 80% umgesetzt. Eine Prüfung 2 Std. später zeigte keinen merklichen Unterschied. Das überschüssige Isovalerylchlorid wurde mit einigen Tropfen Me zerstört, die Lösung eingedampft und durch präp. DC nach Tschesche et al. [11] aufgetrennt. So wurden 3,5 mg. leicht brauner Sirup erhalten, der aus Ac-Pn 2,0 mg farblose Prismen, Smp 146,5–148,5° gab. Identisch mit 3-O-Acetyl-drevogenin A nach Smp., Mischsmp., Laufstrecke im DC und IR.-Spektrum.

Zusammenfassung.

Drevogenin B zeigte, dass es 11-O-acetyl-drevogenin P war. Die vorher abgeleitete Struktur für Drevogenin A (11-O-acetyl-12-O-isovaleryl-drevogenin P) wurde durch die Umwandlung von-3-O-acetyl-drevogenin B auf 3-O-acetyl-drevogenin A weiter bestätigt.

LITERATURVERZEICHNIS.

- [2] R. E. WINKLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 721 (1954).
- [4] a) H. H. SAUER, Ek. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 48, 857 (1965);
b) 49, 1632 (1966);
c) 49, 1655 (1966).
- [5] R. F. ZUERCHER *Helv.* 44, 1380 (1961); 46, 2054 (1963)
- [6] N. S. BHACCA & D. H. WILLIAMS, "Application of NMR-Spectroscopy in Organic Chemistry, Illustrations from the steroid Field", Holden-Day Inc., San Francisco, Amsterdam 1964.
- [7] B. M. KAPUR, H. ALLGEIER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 2171 (1967).
- [8] U. EPPENBERGER, W. VETTER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 49, 1505 (1966)
- [9] a) R. TSCHESCHE, P. WELZEL & G. SNATZKE, *Tetrahedron* 21, 1777 (1965)
b) R. TSCHESCHE, P. WELZEL & H.-W. FEHLHABER, *ibid* 21, 1797 (1965).
c) R. TSCHESCHE, H. KOHL & P. WELZEL, *ibid.* 23, 1461 (1967);
R. TSCHESCHE, M. BAUMGARTH & P. WELZEL, *ibid.* 23, 249 (1967).
- [10] G. R. DUNCAN, *J. Chromatogr.* 8, 37 (1962).
- [11] R. TSCHESCHE, G. BIERNOTH & G. WULFF, *J. Chromatogr.* 12, 342 (1963)

CURRICULUM VITAE

Ich, Ajay Sahai Bhatnagar, wurde am 26. September 1942 in Muree (damals Br. Indien) als Sohn des Shankar Sahai Bhatnagar, Professor an der Universität Bombay, und der Shakuntla Bhatnagar, geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Primarschule in Bombay und anschliessend die Cathedral and John Connon High School, die ich 1957/58 mit der englischen und indischen Maturitätsprüfung (G.C.E. "O" Level und S.S.C.) abschloss. Im Sommer 1958 immatrikulierte ich mich an der Universität Bombay wo ich in 1960 die Inter Science Prüfung (Chemie, Physik u. Mathematik) ablegte. Gleichzeitig absolvierte ich die G.C.E. Scholarship Level Prüfung (Chemie u. Physik) die zum Studium an englischen Hochschulen berechtigt.

Von 1960 bis 1963 besuchte ich die Universität Cambridge, England als Student des Gonville and Caius College. Im Jahre 1962 bestand ich das Natural Sciences Tripos, Part I mit Chemie als Hauptfach, Physik, Mathematik, Metallurgie und Biochemie als Nebenfächer. Das Natural Sciences Tripos, Part II (Bachelor of Arts Degree) legte ich 1963 mit Chemie als Hauptfach ab. Im Frühjahr 1967 erhielt ich den Master of Arts Degree der Universität Cambridge.

Im Winter 1963 immatrikulierte ich mich an der Universität Basel. Im Frühjahr 1964 begann ich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. T. Reichstein mit der vorliegenden Dissertation, die im Frühjahr 1967 abgeschlossen werden konnte.

Während meinem Studium besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren Professoren und Dozenten:

In Cambridge: D.M. Brown, V.M. Clark, A. Cottrell, J.S. Fruton, H.J. Emeleus, A.R. Katritzky, A. Korner, H.C. Longuet-Higgins, F.G. Mann, A. Maxwell, R.W.G. Norrish, C.B. Reece, B.C. Saunders, A. J. Sharpe, W.S. Shire, P. Sykes, Lord Todd, F.G. Young.

In Basel: K. Bucher, S. Fallab, J. Gantner, C.A. Grob, A. Marxer, T. Reichstein, Ch. Tamm.

Druck: Everest Mudranalay, Bombay, Indien.

